

УДК 676.083/.085

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ГЕМИЦЕЛЛЮЛОЗ ДРЕВЕСИНЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS*)

© *Н.В. Гарынцева*^{1,2*}, *В.А. Левданский*¹, *А.А. Кондрасенко*¹, *А.М. Скрипников*^{1,3}, *Б.Н. Кузнецов*^{1,3}

¹ *Институт химии и химической технологии СО РАН, ФИЦ КНЦ СО РАН, Академгородок, 50/24, Красноярск, 660036 (Россия), e-mail: garyntseva@icct.ru*

² *Красноярский государственный аграрный университет, пр. Мира, 90, Красноярск, 660049 (Россия)*

³ *Сибирский федеральный университет, пр. Свободный, 79, Красноярск, 660041 (Россия)*

Многие природные полисахариды обладают биологической активностью, что позволяет использовать их для получения медицинских препаратов. Разработка новых методов выделения полисахаридов из растительного сырья, а также исследование их свойств и строения является актуальной задачей. В работе впервые с использованием метода пероксидной делигнификации в среде «уксусная кислота – вода» в присутствии катализатора $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ из древесины сосны выделен полисахарид галактоглоукоманнан (ГГМ). Его выход составил 10.1 мас.% от навески древесины и 58.1 мас.% от содержания гемицеллюлоз в древесине. Методом ^{13}C ЯМР установлено, что степень ацетилирования ГГМ составляет 0.23 с замещением у С2 и С3 углеродных атомов пиранозного кольца. Согласно данным рентгенофазового анализа ГГМ имеет аморфную надмолекулярную структуру. Из целлюлозного продукта, полученного после пероксидной делигнификации, методом щелочной экстракции выделен полисахарид глюкоксилан (ГК) с выходом 4.3 мас.% от навески древесины и 24.5 мас.% от содержания гемицеллюлоз в древесине. В глюкоксиране полностью отсутствуют ацетильные группы (данные ИК и ЯМР спектроскопии), он имеет кристаллическую надмолекулярную структуру и плохо растворим в воде. Состав и строение полученных полисахаридов изучены с помощью химических методов анализа, ИК-спектроскопии, ^1H , ^{13}C , 2D HSQC ЯМР-спектроскопии, газовой хроматографии, рентгенофазового анализа.

Ключевые слова: гемицеллюлозы, галактоглоукоманнан, древесина сосны, пероксидная делигнификация.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института химии и химической технологии СО РАН (Проект № 0287-2021-0017). В работе использовано оборудование Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

Введение

Ежегодно на территории Красноярского края заготавливается до 30 млн м³ древесины сосны [1]. При этом в качестве отходов деревообработки накапливается значительное количество отходов в виде опилок и стружки. Эти отходы могут являться сырьем для получения ценных химических веществ.

Гарынцева Наталья Викторовна – кандидат химических наук, научный сотрудник, доцент,
e-mail: garyntseva@icct.ru

Левданский Владимир Александрович – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник,
e-mail: vlevdanskiy@mail.ru

Кондрасенко Александр Александрович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник,
e-mail: kondrasenko@icct.ru

Скрипников Андрей Михайлович – младший научный сотрудник, ассистент, e-mail: and-skrpnikov@yandex.ru

Кузнецов Борис Николаевич – доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией химии природного органического сырья, e-mail: bnk@icct.ru

Древесина сосны содержит до 20% гемицеллюлоз, основным полисахаридом которых является галактоглоукоманнан (12% от массы древесины). Кроме того, в состав гемицеллюлоз древесины сосны входит арабиноглоукуроноксилан (4–5%) и арабогалактан (1–1.5%) [2]. В последние годы исследованию строения и свойств полисахаридов уделяется значительное внимание. Большое число исследований направлено на разработку биологически активных препаратов на основе при-

* Автор, с которым следует вести переписку.

родных полисахаридов. Это обусловлено их биосовместимостью и малой токсичностью [3, 4]. Природные полисахариды обладают широким спектром биологической активности, включая антикоагулянтные, противовирусные, антиоксидантные, противоопухолевые, противовоспалительные, антикомплементарные и антисептические свойства [5, 6]. Основными способами выделения полисахаридов из растительного сырья являются щелочная экстракция и экстракция горячей водой [7]. При этом извлечение проводят либо непосредственно из растительного сырья, либо из холоцеллюлозы, получаемой путем предварительной делигнификации сырья. Промышленная холоцеллюлоза, полученная с использованием сульфатной варки, содержит значительное количество гемицеллюлоз [8].

Нами разработан экологически безопасный способ делигнификации различных пород древесины пероксидом водорода в среде «уксусная кислота – вода» в присутствии твердых и растворенных катализаторов. Этот способ позволяет получать в одну стадию целлюлозу с характеристиками, аналогичными промышленной микрокристаллической целлюлозе [9, 10]. В отличие от широко используемого в промышленности сульфатного метода делигнификации древесины, при котором деструкции подвергается в основном лигнин, а углеводная часть древесины практически не затрагивается, при пероксидной делигнификации в среде «уксусная кислота – вода» из древесины удаляются лигнин и гемицеллюлозы. При этом значительная часть гемицеллюлоз переходит в варочный раствор, откуда они выделяются осаждением этанолом [11]. Из древесины березы с использованием данного метода был получен ксилан [11], а из древесины лиственницы – галактоглоукоманнан [12]. Целлюлозный продукт, полученный путем пероксидной делигнификации в среде «уксусная кислота – вода», содержит остаточные гемицеллюлозы в количестве от 4 до 8 мас.%, в зависимости от породы древесины. В работе [12] изучено влияние различных катализаторов на выход, состав и свойства гемицеллюлоз в процессе делигнификации древесины лиственницы. Установлено, что максимальный выход гемицеллюлоз (16.9 мас.%) достигается при использовании в качестве катализатора пероксидной делигнификации пермолибдата аммония $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$.

В литературе отсутствуют сведения о составе и свойствах гемицеллюлоз, выделенных в процессе пероксидной делигнификации древесины сосны в среде «уксусная кислота – вода».

Цель настоящей работы – изучение состава и строения гемицеллюлоз, выделенных из древесины сосны в процессе ее делигнификации в среде «уксусная кислота – вода» в присутствии катализатора $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, а также из образующегося при этом целлюлозного продукта.

Экспериментальная часть

Исходный материал. В качестве исходного материала использовали опилки древесины сосны (*Pinus Sylvestris*), заготовленной в окрестностях г. Красноярск. С помощью лабораторных сит из опилок выделяли фракцию размерностью 0.5–1 мм, которую использовали в процессе пероксидной делигнификации. Химический состав исходной древесины, определенный с использованием стандартных методик [13] (мас.% от абсолютно сухой древесины): целлюлоза 46.9 ± 1.2 ; лигнин 27.3 ± 0.8 ; гемицеллюлозы 17.5 ± 0.5 ; экстрактивные вещества 5.6 ± 0.4 ; зола 0.4 ± 0.02 .

Пероксидная делигнификация древесины сосны. Фракцию древесины сосны размерностью 0.5–1 мм последовательно экстрагировали спирто-толуольной смесью, этанолом и горячей водой (100 °С) в соответствии с методом ASTM [14] с целью удаления экстрактивных веществ.

Процесс делигнификации обессмоленных опилок сосны осуществляли в трехгорлой стеклянной колбе объемом 250 мл, снабженной мешалкой и обратным холодильником. Раствор для делигнификации состоял из ледяной уксусной кислоты (30 мас.%), пероксида водорода (6 мас.%) и дистиллированной воды. Делигнификацию проводили при температуре 90 °С в течение 3 ч при гидромодуле (ГМ) 15 и скорости перемешивания 600 об./мин. В качестве катализатора использовали $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ (1% от массы древесины), обеспечивающий высокий выход гемицеллюлоз в процессе пероксидной делигнификации [12].

После делигнификации целлюлозный продукт отфильтровывали на воронке Бюхнера, промывали дистиллированной водой до нейтральной pH и сушили в сушильном шкафу при 40 °С в течение 24 ч. Полученный целлюлозный продукт использовали для дальнейшего извлечения из него остаточных гемицеллюлоз.

Из отработанного реакционного раствора (рис. 1) выделяли первую фракцию гемицеллюлоз (ГЦ 1).

Выделение гемицеллюлоз из отработанного реакционного раствора. Отработанный реакционный раствор, полученный после пероксидной делигнификации древесины сосны, концентрировали на роторном

испарителе. К кубовому остатку добавляли пятикратный объем этанола (95%), при этом происходит осаждение гемицеллюлоз в виде белого творожистого осадка. Полученный осадок выдерживали в течение 12 ч при температуре 4 °С. Осадок гемицеллюлоз отделяли от надосадочной жидкости центрифугированием (центрифуга лабораторная медицинская ОПн-8) при 6000 об./мин в течение 10 мин, затем промывали на фильтре этанолом и сушили на воздухе. Выход ГГМ рассчитывали на массу исходной древесины и на содержание гемицеллюлоз в исходной древесине.

Щелочная экстракция гемицеллюлоз из целлюлозного продукта. Остаточные гемицеллюлозы (ГЦ 2), содержащиеся в целлюлозном продукте, экстрагировали раствором NaOH. Для этого целлюлозный продукт помещали в химический стакан, добавляли к нему 4% раствор NaOH при гидромодуле 25 и помещали на магнитную мешалку с функцией нагрева. Экстракцию проводили при 60 °С в течение 1 ч и скорости перемешивания 500 об./мин. После окончания экстракции целлюлозу отфильтровывали, промывали дистиллированной водой и сушили в сушильном шкафу при 40 °С в течение 24 ч.

Фильтрат подкисляли 6 М HCl до pH 5.5, концентрировали на роторном испарителе и добавлением пятикратного объема этанола осаждали гемицеллюлозы. Дальнейшее выделение гемицеллюлоз проводили способом, описанным выше.

Расчет выхода гемицеллюлоз. Процесс выделения гемицеллюлоз из древесины сосны осуществляли пятикратно, выход продуктов был рассчитан согласно уравнению:

$$\text{Выход (\%)} = \frac{m_{\text{ГЦ}}}{m_{\text{а.с.д.}}} \cdot 100\% \quad (1)$$

$$\text{Выход (\%)} = \frac{m_{\text{ГЦ}}}{m_{\text{ГЦд}}} \cdot 100\% \quad (2)$$

где $m_{\text{ГЦ}}$ – масса выделенных гемицеллюлоз (ГЦ 1 или ГЦ 2), $m_{\text{а.с.д.}}$ – масса абсолютно сухой обессмоленной древесины сосны, $m_{\text{ГЦд}}$ – масса гемицеллюлоз в исходной обессмоленной древесине сосны.

В результатах приведено среднее значение.

Схема извлечения гемицеллюлоз из опилок древесины сосны представлена на рисунке 1.

Химический анализ. Содержание целлюлозы определяли по методу Кюршнера [13], лигнина по методу Классона в модификации Комарова [13]. Гемицеллюлозы определяли как легкогидролизуемые полисахариды по методу Мэкона-Шоорли [13].

Инфракрасная спектроскопия. Регистрацию ИК-спектров в области 4000–400 см⁻¹ осуществляли с использованием ИК-Фурье спектрометра Tensor 27 (Bruker, Германия). Обработку спектральной информации проводили с использованием пакета программы OPUS, версия 5.0. Образцы для съемки ИК-спектров поглощения готовили в виде прессованных таблеток, содержащих 4 мг образца в матрице бромистого калия.

Рентгенофазовый анализ. Рентгенограммы образцов получали с использованием дифрактометра ДРОН-3 с излучением Cu-Kα (λ=0.154 нм). Съемку дифрактограмм осуществляли в интервале углов 2θ от 10 до 60° с шагом 0.02° и временем накопления импульсов в точке 4 с.



Рис. 1. Схема выделения гемицеллюлоз из опилок древесины сосны: 1 – Делигнификация (CH₃COOH – 30 мас.%, H₂O₂ – 6 мас.%, ГМ 15, 90 °С, 3 ч, кат. (NH₄)₆Mo₇O₂₄), 2 – Концентрирование на роторном испарителе, осаждение C₂H₅OH, 3 – Экстракция 5% NaOH при 60 °С, 1ч, осаждение C₂H₅OH

Ядерный магнитный резонанс. Спектры ^1H , ^{13}C ЯМР и 2D HSQC образцов ГЦ 1 и ГЦ 2 регистрировали с использованием спектрометра Bruker Avance III (600 МГц (^1H) и 155 МГц (^{13}C)) при температуре 25 °С. Накопление сигнала углерода осуществляли в течение 15 ч (4096 сканирований с задержкой релаксации 10 с). 2D-спектры HSQC были получены с использованием последовательности импульсов HSQC из библиотеки Bruker (hsqcedgp). Образец ГЦ 1 растворяли в D_2O (Sigma-Aldrich, Shanghai, China), а образец ГЦ 2 в (DMSO-d_6) (Sigma-Aldrich, Shanghai, China) – в течение 12 ч. Концентрация составляла около 80 мг/мл.

Степень ацетилирования образца ГЦ 1 находили из соотношения интегральной интенсивности сигнала углеродов в $-\text{CH}_3$ ацетильной группы (19.5–21.0 м.д.) к интегральной интенсивности сигналов аномерных атомов углерода C1 моносахаридов (99–105 м.д.) [15, 16]. Спектр ^{13}C ЯМР был записан для количественных оценок, интенсивности нормализованы.

Газовая хроматография. Для определения состава гемицеллюлоз проводили их гидролиз раствором H_2SO_4 (2%) в течение 3 ч при температуре кипения. Состав и содержание моносахаридов в гидролизатах определяли с использованием газового хроматографа VARIAN-450 GC (Varian Inc., США) с пламенно-ионизационным детектором, оснащенный капиллярной колонкой VF-624 ms длиной 30 м и внутренним диаметром 0.32 мм. Образец гидролизата предварительно дериватизировали по методике, описанной в [17], с образованием триметилсилильных производных. Силилирующий реагент представлял собой смесь триметилхлорсилана и гексаметилдисилазана в пиридине. В качестве внутреннего стандарта (IS) использовали сорбит. Стандартами для анализа гидролизатов являлись глюкоза, арабиноза, галактоза, сорбит, манноза и ксилоза (Panreac, Германия).

Результаты и обсуждение

Исходная древесина сосны содержит 17.5 мас.% гемицеллюлоз, 27.3 мас.% лигнина и 46.9 мас.% целлюлозы (рис. 2). В процессе пероксидной делигнификации древесины сосны в среде «уксусная кислота – вода» при 90 °С в присутствии катализатора $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ преобладающая часть гемицеллюлоз (65%) переходит в раствор. Полученный целлюлозный продукт содержит 6.2 мас.% остаточных гемицеллюлоз. Выделенный из варочного раствора образец ГЦ 1 представляет собой мелкодисперсный белый порошок с желтым оттенком (рис. 3а). Его выход составляет 10.1 мас.% от исходной навески древесины и 58.1 мас.% от содержания гемицеллюлоз в исходной древесине. В процессе пероксидной делигнификации удаляется основная часть лигнина и полученный целлюлозный продукт содержит 2.5 мас.% остаточного лигнина.

Удаление гемицеллюлоз из целлюлозного продукта проводили путем его обработки 5% NaOH при 60 °С в течение 1 ч. При этом количество гемицеллюлоз в целлюлозном продукте уменьшается с 6.2 до 0.5 мас.%. Образец ГЦ 2, экстрагированный щелочью из целлюлозного продукта, представляет собой мелкодисперсный белый порошок с серым оттенком (рис. 3б). Его выход составляет 4.3 мас.% от навески древесины и 24.5 мас.% от содержания гемицеллюлоз в исходной древесине. Содержание остаточного лигнина в обработанном щелочью образце ГЦ 2 снижается до 0.7 мас.%.

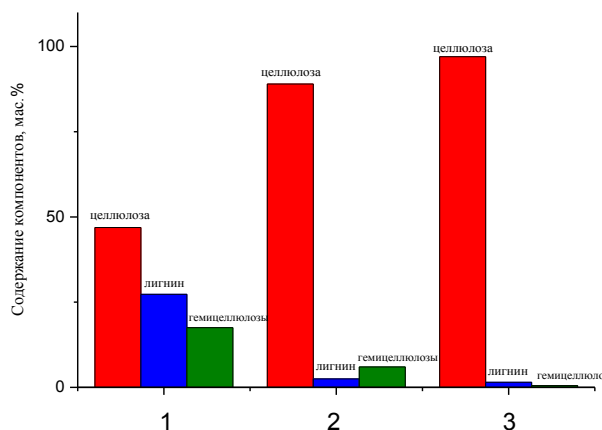
Суммарное количество выделенных из древесины сосны гемицеллюлоз составляет 14.4% от массы древесины, или 82.6 мас.% от их содержания в исходной древесине. Потери при выделении гемицеллюлоз, вероятно, связаны с гидролизом гемицеллюлоз до моносахаридов на стадии пероксидной делигнификации древесины.

Согласно литературным данным [2], гемицеллюлозы древесины сосны представлены двумя основными полисахаридами: галактоглюкоманнаном и арабиноглюкуроноксиланом. На моносахаридный состав образцов выделяемых гемицеллюлоз существенное влияние кроме вида древесины оказывают такие факторы, как ареал произрастания, сроки заготовки сырья, возраст древесины, а также способ выделения [18].

Методом газовой хроматографии был проведен анализ продуктов полного кислотного гидролиза гемицеллюлоз (табл.).

Преобладающее количество маннозы и галактозы в образце ГЦ 1 и незначительное (следовое) количество ксилозы в нем свидетельствует о том, что в процессе пероксидной делигнификации древесины сосны в среде «уксусная кислота – вода» в раствор преимущественно переходит полисахарид галактоглюкоманнан, а арабиноглюкуроноксилан практически полностью остается в виде остаточных гемицеллюлоз в целлюлозном продукте. Этот полисахарид в измененном виде (без звеньев арабинозы) количественно экстрагируется на стадии выделения гемицеллюлоз при обработке образца целлюлозного продукта щелочью. Образец ГЦ 2 содержит 72 отн.% ксилозы, 23 отн.% глюкозы, 5 отн.% маннозы и не содержит арабинозу. В нем отсутствует арабиноза, которая в кислых средах отщепляется от звеньев полисахаридов в виде моносахарида [19].

Рис. 2. Содержание целлюлозы, лигнина и гемицеллюлоз в исходной древесине сосны (1) и целлюлозных продуктах, полученных ее пероксидной делигнификацией (2) и последующей щелочной экстракции (3)



a



б

Рис. 3. Фото порошка образца ГЦ 1, выделенного из древесины сосны методом пероксидной делигнификации (*a*), и порошка образца ГЦ 2, выделенного щелочной экстракцией целлюлозного продукта (*б*)

Относительное содержание моносахаридов в гидролизатах гемицеллюлоз, выделенных из древесины сосны (по данным ГХ)

Образец	Содержание моносахаридов в гидролизатах, отн. %				
	Манноза	Глюкоза	Галактоза	Ксилоза	Арабиноза
ГЦ 1	53	16	27	4	не обнаружено
ГЦ 2	5	23	не обнаружено	72	не обнаружено

ИК-спектры образцов полисахаридов, выделенных из древесины сосны, представлены на рисунке 4. Интерпретация характеристических полос поглощения выполнена в соответствии с [20, 21]. В спектрах образцов ГЦ 1 и ГЦ 2 присутствуют полосы поглощения, соответствующие валентным колебаниям связи О–Н в гидроксильных группах, вовлеченных во внутримолекулярную Н-связь (3435 и 3417 см⁻¹), и валентным колебаниям связей С–Н в группах СН₂ (2931 и 2924 см⁻¹). Полосы поглощения в интервале 1200–1000 см⁻¹ принадлежат валентным колебаниям связей С–С и С–О в пиранозном кольце и валентным колебаниям С–О–С гликозидных связей. Интенсивное поглощение в этой области спектра характерно для всех полисахаридов [20]. Полоса ≈900 см⁻¹ характеризует конфигурацию у первого углеродного атома пиранозного кольца. Ее положение в представленных спектрах на частоте 893 и 892 см⁻¹ указывает на наличие β-гликозидной связи между мономерными звеньями сахаров в обоих исследуемых образцах полисахаридов [12].

ИК-спектры образцов ГЦ 1 и ГЦ 2 существенно различаются в интервале волновых чисел 1200–1800 см⁻¹. Различие обусловлено присутствием ацетильных групп в образце ГЦ 1 (рис. 4а), что проявляется при сопоставлении интенсивности полос поглощения: при 1739 см⁻¹ (колебание связи С=О), при 1375 см⁻¹ (колебание связи С–СН₃) и при 1245 см⁻¹ (валентные колебания связи –С–О–) [12].

В ИК-спектре образца ГЦ 2 (рис. 4б) отсутствуют полосы поглощения при 1737 и 1245 см⁻¹, что является следствием процесса деацетилирования при выделении гемицеллюлоз растворами щелочей [22].

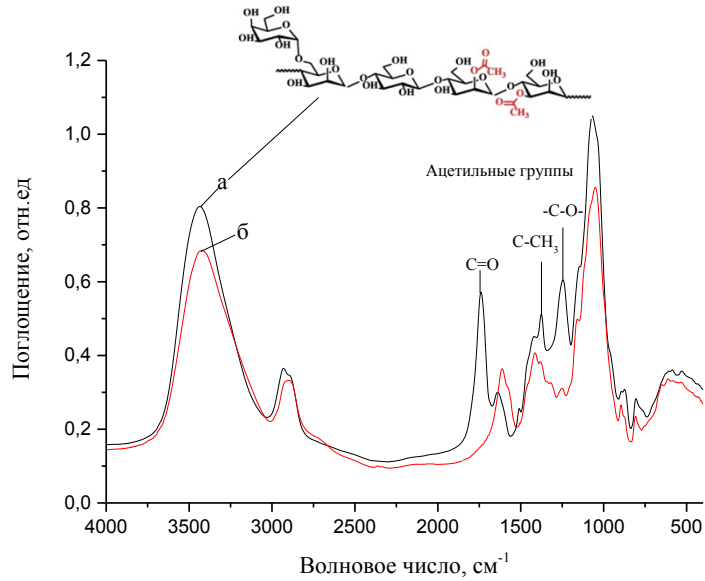


Рис. 4. ИК-спектры образцов: а – ГЦ 1 (галактоглокоманнан) , б – ГЦ 2 (глюкоксилян), выделенных из древесины сосны

Использование метода ¹H ЯМР, ¹³C ЯМР и 2D HSQC позволило получить дополнительную информацию о строении выделенных полисахаридов ГЦ 1 и ГЦ 2. Отнесение сигналов хим. сдвигов проводили путем их сравнения с литературными данными [23–27].

В 2D HSQC спектре образца ГЦ 1 (рис. 5) в области сигналов хим. сдвигов, характерных для аномерных C1 атомов остатков моносахаридов, идентифицированы: манноза $\delta C/\delta H$ (100.22/4.68 м.д.), манноза, ацелированная в положение C2, $\delta C/\delta H$ (98.82/4.95 м.д.), манноза ацелированная в положение C3, $\delta C/\delta H$ (99.82/4.86 м.д.), галактоза $\delta C/\delta H$ (101.74/4.57 м.д.), глюкоза $\delta C/\delta H$ (102.59/4.41 м.д.) и ксилоза $\delta C/\delta H$ (104.44/4.57 м.д.). Сигналы атомов C2, C3, C4, а также C5 и C6 этих моносахаридов проявляются в виде кросс-пиков в областях $\delta C/\delta H$ 65–82/3.1–4.15 м.д. и $\delta C/\delta H$ 50–65/3.25–4.1 м.д. соответственно. Два характерных кросс-пика при $\delta C/\delta H$ 71.63/5.44 и 73.37/5.03 м.д. свидетельствуют о замещении гидроксильной группы на ацетильную в положениях C2 и C3 пиранозного кольца маннозы [12].

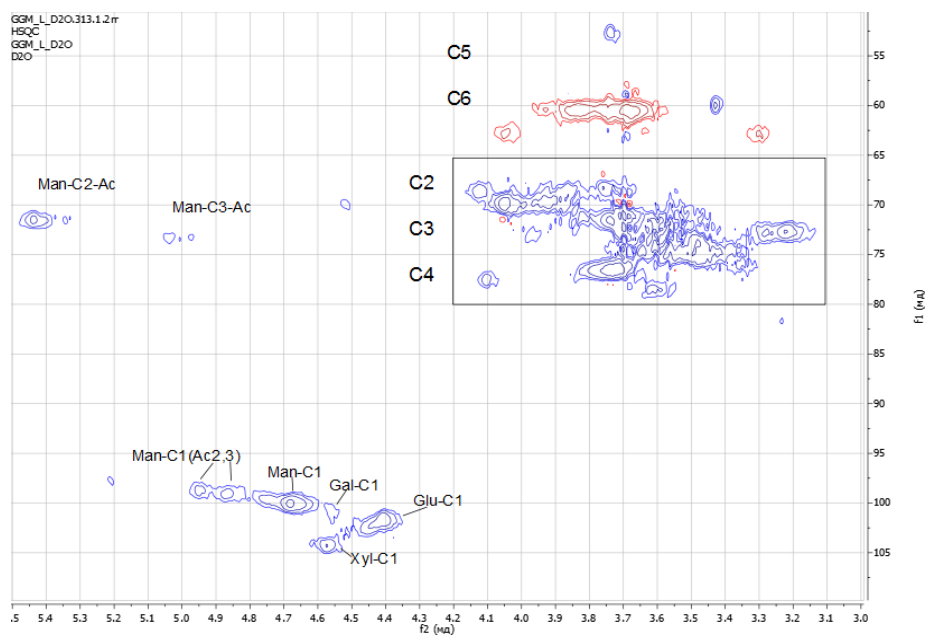


Рис. 5. Фрагмент 2D HSQC спектра образца ГЦ 1 (галактоглокоманнана) древесины сосны

Степень ацетилирования образца ГЦ 1 (галактоглокоманнана), рассчитанная из ^{13}C ЯМР-спектра (рис. 6), составляет 0.23. Такая степень ацетилирования характерна для природных галактоглокоманнанов [28].

В 2D HSQC спектре образца ГЦ 2 (рис. 7) в области сигналов аномерных атомов углерода присутствует три кросс-пика, которые соответствуют сигналам атомов C1 ксилозы $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ (102.14/4.27 м.д.), глюкозы $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ (103.22/4.53 м.д.) и маннозы $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ (98.24/4.98 м.д.). Сигналы атомов C2, C3, C4 ксилозы, глюкозы и маннозы наблюдаются в области $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ 70–80/2.9–4.0 м.д. и атомов C5 и C6 в области $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ 59–65/3.1–4.0 м.д. Результаты ЯМР-спектроскопии хорошо согласуются с данными ГХ анализа, указывающими, что гидролизат образца ГЦ 2 преимущественно содержит ксилозу, глюкозу и в незначительном количестве маннозу.

Также результаты 2D HSQC анализа подтверждают отсутствие ацетильных групп в составе образца ГЦ 2. В спектре отсутствуют кросс-пики в области ацетилированных C2 и C3 атомов углерода пиранозного кольца $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ 70–75/5.0–5.5 м.д.

Надмолекулярная структура выделенных полисахаридов исследована методом РФА. Дифрактограммы образцов ГЦ 1 и ГЦ 2 существенно различаются (рис. 8).

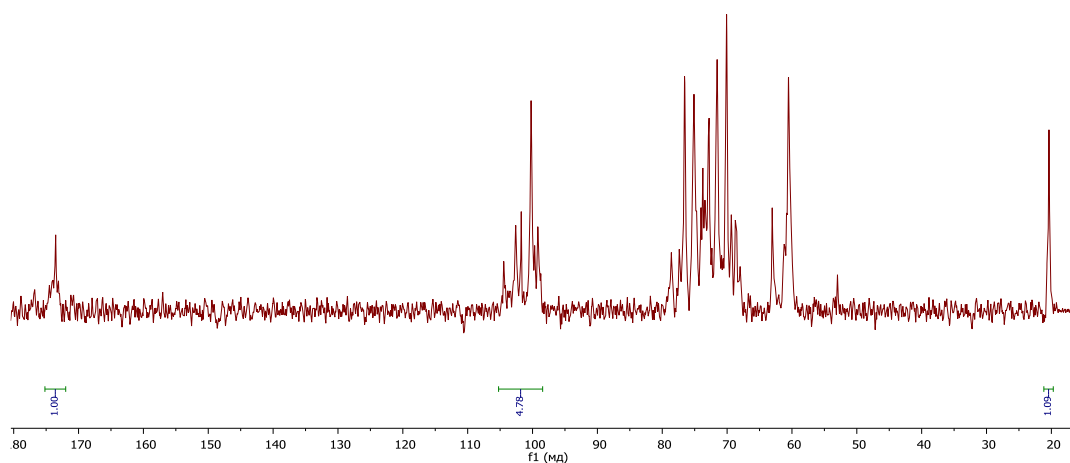


Рис. 6. ^{13}C ЯМР-спектр образца ГЦ 1 (галактоглокоманнана) древесины сосны с интегрированием областей аномерных C1 атомов углерода (105.0–95.0 м.д.) и атомов углерода в ацетильной $-\text{CH}_3$ группе (22.0–21.0 м.д.), использованный для определения степени ацетилирования гемицеллюлоз

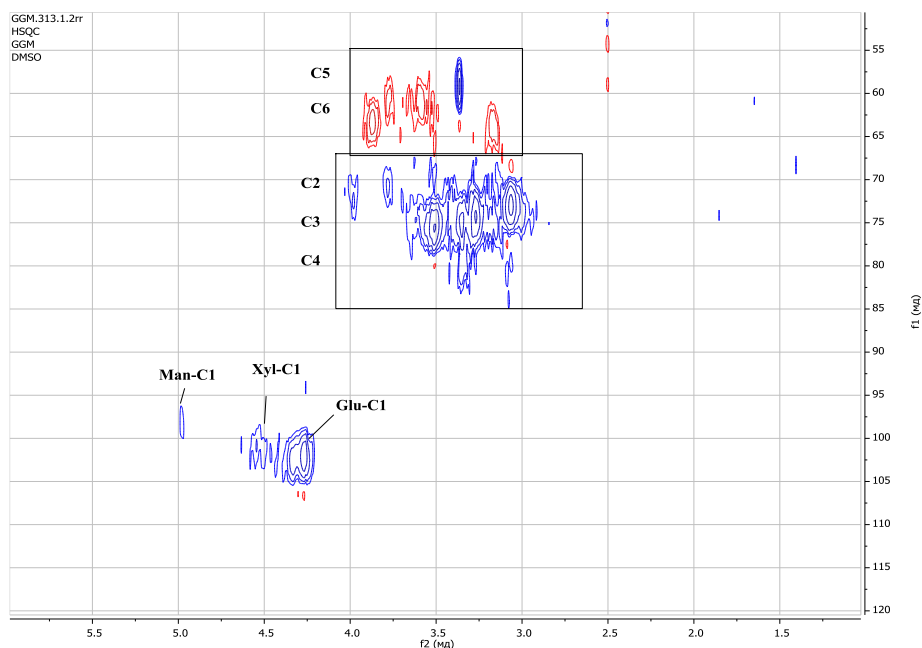


Рис. 7. Фрагмент 2D HSQC спектра образца ГЦ 2 (глюкоксилана) древесины сосны

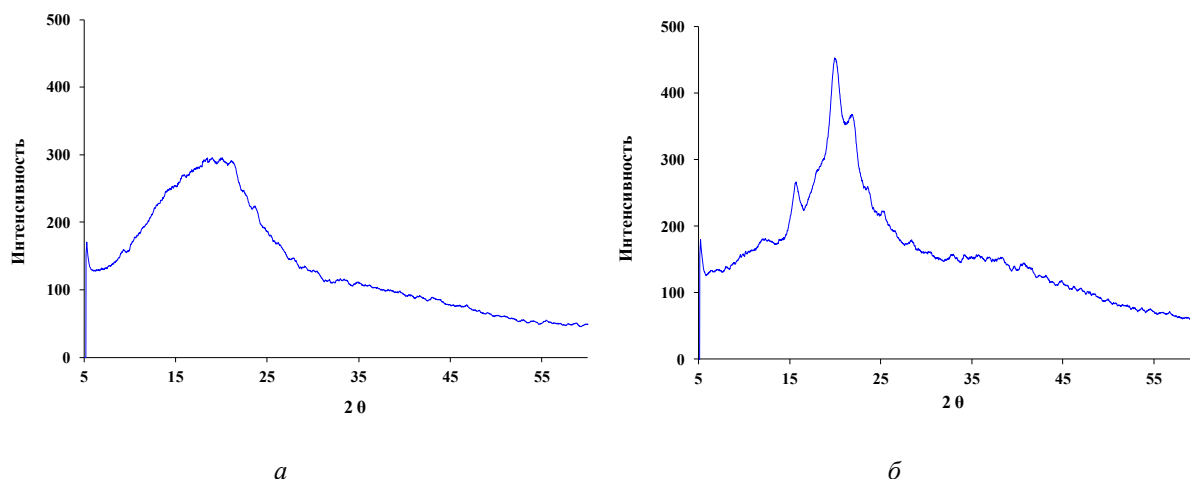


Рис. 8. Дифрактограммы образцов: *a* – ГЦ 1 (галактоглокоманнан), *б* – ГЦ 2 (глюкоксилан), выделенных из древесины сосны

Образец ГЦ 1 (галактоглокоманнан) имеет аморфную надмолекулярную структуру. На его дифрактограмме наблюдается широкий максимум в интервале углов 2θ 15–25° (рис. 8а). Аморфизации гемицеллюлоз могут способствовать ацетильные группы, которые увеличивают растворимость полисахарида, но ограничивают его способность к кристаллизации [19]. Отсутствие упорядоченности в полисахаридах галакто- и глюкоманнах является их характерным свойством [2, 29, 30].

На дифрактограмме образца ГЦ 2 (рис. 8б) в интервале углов 2θ 10–30° присутствует 9 рефлексов, что указывает на его кристаллическую структуру. Эти результаты хорошо согласуются с литературными данными о наличии кристаллической структуры в деацетилированных ксиланах [31].

Различие в надмолекулярной структуре образцов ГЦ 1 и ГЦ 2 обуславливает и их различную растворимость в воде. Наличие упорядоченной надмолекулярной структуры препятствует гидратации полисахаридов, поэтому они плохо растворяются в воде, как это наблюдается в случае образца ГЦ 2. Более аморфный образец ГЦ 1 хорошо растворим в воде.

Заключение

Впервые с использованием метода пероксидной делигнификации древесины сосны в среде «уксусная кислота – вода» и последующей щелочной обработкой целлюлозного продукта выделены основные полисахариды, входящие в состав древесных гемицеллюлоз. В процессе пероксидной делигнификации древесины сосны около 60 мас.% гемицеллюлоз переходит в раствор, что составляет 10.1% от массы древесины. Остаточные гемицеллюлозы извлекаются из целлюлозного продукта 5% NaOH с выходом 4.3% от массы древесины. Состав и строение выделенных из древесины сосны полисахаридов, установлены методами ИК; ^1H , ^{13}C ЯМР, 2D HSQC; ГХ и РФА.

Образец ГЦ 1, выделенный в процессе пероксидной делигнификации древесины, представляет собой галактоглокоманнан. Это желто-белый порошок, хорошо растворимый в воде. По данным ЯМР ацетильные группы в нем находятся в положении 2 и 3, степень ацетилирования составляет 0.23. Согласно данным РФА он имеет аморфную надмолекулярную структуру.

Гемицеллюлозы, выделенные щелочной обработкой целлюлозного продукта, представляют собой глюкоксилан, в котором отсутствуют ацетильные группы. Это серо-белый порошок с упорядоченной (кристаллической) надмолекулярной структурой, плохо растворимый в воде.

Полученные полисахариды могут найти применение для получения биологически активных сульфатов, C5 и C6 сахаров, а также различных полиолов.

Список литературы

1. Красноярский край достиг рекордного уровня объемов лесозаготовок [Электронный ресурс]. URL: <https://lps-sibiri.ru/news/krasnoyarskij-kraj-dostig-rekordnogo-urovnya-obemov-lesozagotovok/>.
2. Шарков В.И., Куйбина Н.И. Химия Гемицеллюлоз. М., 1972. 440 с.

3. Abbou A., Kadri N., Debbache N., Dairi S., Remini H., Dahmoune F., Berkani F., Adel K., Belbahi A., Madani K. Effect of precipitation solvent on some biological activities of polysaccharides from *Pinus halepensis* Mill. Seeds // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. Vol. 141. Pp. 663–670. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.266.
4. Renaud M., Belgacem M.N., Rinaudo M. Rheological behaviour of polysaccharide aqueous solutions // *Polymer*. 2005. Vol. 46. N26. Pp. 12348–12358. DOI: 10.1016/j.polymer.2005.10.019.
5. Kadri N., Khetta B., Adjebl A., Cresteil T., Yahiaoui-Zaidi R., Barragan-Montero V., Montero J.-L. Antiangiogenic activity of neutral lipids, glycolipids, and phospholipids fractions of *Pinus halepensis* Mill. Seeds // *Ind. Crop. Prod.* 2014. Vol. 54. Pp. 6–12. DOI: 10.1016/J.INDCROP.2013.12.051.
6. Yong-Guang B., Ding-Long Y., Yu-min L., Min-xia H. Study on ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide of *Atractylis Macrocephala* Koidz of experiment // *Energy Procedia*. 2012. Vol. 17. Pp. 1778–1785. DOI: 10.1016/J.EGYPRO.2012.02.311.
7. Junior D.L., Ayoub A., Venditti R.A., Jameel H., Colodette J.L., Hou-min C. Ethanol Precipitation of Hetero-Polysaccharide Material from Hardwood by Alkaline Extraction Prior to the Kraft Cooking Process // *BioResources*. 2013. Vol. 8. N4. Pp. 5319–5332.
8. Новожилов Е.В., Пошина Д.Н. Биотехнологии в производстве целлюлозы для химической переработки (обзор) // *Химия растительного сырья*. 2011. №3. С. 15–32.
9. Kuznetsov B.N., Sudakova I.G., Garyntseva N.V., Levdansky V.A., Ivanchenko N.M., Pestunov A.V., Djakovitch L., Pinel C. Green biorefinery of larch wood biomass to obtain the bioactive compounds, functional polymers and nanoporous materials // *Wood Science and Technology*. 2018. Vol. 52. Pp. 1377–1394. DOI: 10.1007/s00226-018-1029-7.
10. Kuznetsov B.N., Levdansky V.A., Kuznetsov S.A., Garyntseva N.V., Sudakova I.G., Levdansky A.V. Integration of peroxide delignification and sulfamic acid sulfation methods for obtaining cellulose sulfates from aspen wood // *European Journal of Wood and Wood Products*. 2018. Vol. 76. Pp. 999–1007. DOI: 10.1007/s00107-017-1262-z.
11. Garyntseva N.V., Sudakova I.G., Kondrasenko A.A., Skripnikov A.M., Kuznetsov B.N., Taran O.P., Agabekov V.E. Composition of Products of Birch Wood Delignification by Hydrogen Peroxide in the Medium “Acetic Acid – Water – Catalyst TiO₂” // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2015. Vol. 8. N3. Pp. 450–464. DOI: 10.17516/1998-2836-2015-8-3-450-464.
12. Chudina A.I., Malyar Yu.N., Sudakova I.G., Kazachenko A.S., Skripnikov A.M., Borovkova V.S., Kondrasenko A.A., Mazurova E.V., Fetisova O.Yu., Ivanov I.P. Physicochemical characteristics of polysaccharides from catalytic and noncatalytic acetic acid-peroxide delignification of larch wood // *Biomass Conversion and Biorefinery*. 2021. DOI: 10.1007/s13399-021-01833-y.
13. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М., 1991. 319 с.
14. ASTM D1105-96. Standard Test Method For Preparation Of Extractive-Free Wood. 2013.
15. Lundqvist J., Teleman A., Junel L. Zacchi G., Dahlman O., Tjerneld F., Stalbrand H. Isolation and characterization of galactoglucomannan from spruce (*Picea abies*) // *Carbohydrate Polymers*. 2002. Vol. 48. Pp. 29–39. DOI: 10.1016/S0144-8617(01)00210-7.
16. Xu C., Leppänen A.-S., Eklund P., Holmlund P., Sjöholm, Sundberg K., Willför S. Acetylation and characterization of spruce (*Picea abies*) galactoglucomannans // *Carbohydrate Research*. 2010. Vol. 345. Pp. 810–816. DOI: 10.1016/j.carres.2010.01.007.
17. Ruiz-Matute A.I., Hernández-Hernández O., Rodríguez-Sánchez S., Sanz M.L., Martínez-Castro I. Derivatization of carbohydrates for GC and GC-MS analyses // *J. Chromatogr. B*. 2011. Vol. 879. Pp. 1226–1240. DOI: 10.1016/j.jchromb.2010.11.013.
18. Hu L., Fang X., Du M., Luo F., Guo Sh. Hemicellulose-Based Polymers Processing and Application // *American Journal of Plant Sciences*. 2020. Vol. 11. Pp. 2066–2079. DOI: 10.4236/ajps.2020.1112146.
19. Дудкин М.С., Громов В.С., Ведерников Н.А., Каткевич Р.Г. Гемиделлюлозы. Рига, 1991. 488 с.
20. Kačuráková M., Capek P., Sasinková V., Wellner N., Ebringerová A. FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses // *Carbohydr Polym*. 2000. Vol. 43. Pp. 195–203. DOI: 10.1016/S0144-8617(00)00151-X.
21. Hong T., Yin J.-Y., Nie Sh-P., Xie M.-Y. Applications of infrared spectroscopy in polysaccharide structural analysis: Progress, challenge and perspective // *Food Chemistry: X*. 2021. Vol. 12. 100168. DOI: 10.1016/j.fochx.2021.100168.
22. Pawar P.M.-A., Koutaniemi S., Tenkanen M., Mellerowicz E.J. Acetylation of woody lignocellulose: significance and regulation // *Front Plant Sci*. 2013. Vol. 4. 118. DOI: 10.3389/fpls.2013.00118.
23. Hannuksela T., Penhoat C.H. NMR structural determination of dissolved O-acetylated galactoglucomannan isolated from spruce thermomechanical pulp // *Carbohydrate Research*. 2004. Vol. 339. Pp. 301–312. DOI: 10.1016/j.carres.2003.10.025.
24. Capek P., Alföldi J., Liskova D. An acetylated galactoglucomannan from *Picea abies* L. Karst // *Carbohydrate Research*. 2002. Vol. 337. Pp. 1033–1037. DOI: 10.1016/S0008-6215(02)00090-3.
25. Muschin T., Yoshida T. Structural analysis of galactomannans by NMR spectroscopy // *Carbohydrate Polymers*. 2012. Vol. 87. Pp. 1893–1898. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.08.059.
26. Hazendock J.M., Reineink E. J.M., Ward P., Dam J.E.G. Structural analysis of acetylated hemicelluloses polysaccharides from fibre flax (*Linum usitatissimum* L.) // *Carbohydrate Research*. 1996. Vol. 291. Pp. 141–154.

27. Vincent P., Ham-Pichavant F., Michaud C., Mignani G., Mastroianni S., Cramail H., Grelier S. Extraction and Characterization of Hemicelluloses from a Softwood Acid Sulfite Pulp // *Polymers*. 2021. Vol. 13. 2044. DOI: 10.3390/polym13132044.
28. Baath J.A., Martinez-Abad A., Berglund J., Larsbrink J., Vilaplana F., Olsson L. Mannanase hydrolysis of spruce galactoglucomannan focusing on the influence of acetylation on enzymatic mannan degradation // *Biotechnol Biofuels*. 2018. Vol. 11. 114. DOI: 10.1186/s13068-018-1115-y.
29. Mudgil D., Barak S., Khatkar B.S. X-ray diffraction, IR spectroscopy and thermal characterization of partially hydrolyzed guar gum // *Int. J. Biol. Macromol.* 2012. Vol. 50. Pp. 1035–1039. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.02.031.
30. Kazachenko A.S., Malyar Y.N., Vasilyeva N.Y., Fetisova O.Y., Chudina A.I., Sudakova I.G., Antonov A.V., Borovkova V.S., Kuznetsova S.A. Isolation and sulfation of galactoglucomannan from larch wood (*Larix sibirica*) // *Wood Science And Technology*. 2021. Vol. 55. Pp. 1091–1107. DOI: 10.1007/s00226-021-01299-1.
31. Zhang M., Zhan A., Ye Y., Liu C., Hang F., Li K., Li J. Molecular modification, structural characterization and biological activity of xylans // *Carbohydrate Polymers*. 2021. Vol. 269. 118248. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.118248.

Поступила в редакцию 29 июня 2022 г.

После переработки 8 сентября 2022 г.

Принята к публикации 27 сентября 2022 г.

Для цитирования: Гарынцева Н.В., Левданский В.А., Кондрасенко А.А., Скрипников А.М., Кузнецов Б.Н. Выделение и изучение полисахаридов гемицеллюлоз древесины сосны обыкновенной (*Pinus Sylvestris*) // *Химия растительного сырья*. 2022. №4. С. 47–57. DOI: 10.14258/jcrpm.20220411609.

Garyntseva N.V.^{1,2}, Levdansky V.A.¹, Kondrasenko A.A.¹, Skripnikov A.M.^{1,3}, Kuznetsov B.N.^{1,3} ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF HEMICELLULOSES POLYSACCHARIDES OF SCOTS PINE WOOD (*PINUS SYLVESTRIS*)*

¹ *Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS, FRC KSC SB RAS, Akademgorodok, 50/24, Krasnoyarsk, 660036, (Russia), e-mail: bnk@icct.ru*

² *Krasnoyarsk State Agrarian University, pr. Mira, 90, Krasnoyarsk, 660049 (Russia)*

³ *Siberian Federal University, pr. Svobodny, 79, Krasnoyarsk, 660041 (Russia)*

Many natural polysaccharides have biological activity, which allows them to be used to obtain medicines. The development of new methods for the isolation of polysaccharides from plant materials, as well as the study of their properties and structure, is an actual task. In this work the polysaccharide galactoglucomannan (GGM) was isolated from pine wood time by the peroxide delignification in the “acetic acid-water” medium in the presence (NH₄)₆Mo₇O₂₄. Its yield was 10.1 wt.% from the weight of wood and 58.1 wt.% from the content of hemicelluloses in wood. By ¹³C NMR method it was found that the degree of GGM acetylation is 0.23 with substitution of carbon atoms of the pyranose ring at C2 and C3. According to the X-ray data, GGM has an amorphous supramolecular structure. The polysaccharide gluoxylan (GX) was isolated by alkaline extraction from the cellulose product obtained after peroxide delignification. Its yield was 4.3 wt.% from wood and 24.5 wt.% from the content of hemicelluloses in wood. Glucoxylan does not contain acetyl groups (data from IR and NMR spectroscopy), it has a crystalline supramolecular structure and is poorly soluble in water. Composition and structure of the obtained polysaccharides were studied using chemical methods of analysis, IR spectroscopy, ¹H, ¹³C, 2D HSQC NMR spectroscopy, gas chromatography, X-ray analysis.

Keywords: hemicelluloses, galactoglucomannan, pine wood, peroxide delignification.

References

1. *Krasnoyarskiy kray dostig rekordnogo urovnya ob'yemov lesozagotovok* [The Krasnoyarsk Territory has reached a record level of timber harvesting]. URL: <https://lpk-sibiri.ru/news/krasnoyarskiy-kraj-dostig-rekordnogo-urovnya-obemov-lesozagotovok/>. (in Russ.).
2. Sharkov V.I., Kuybina N.I. *Khimiya gemitsellyuloz*. [Chemistry of hemicelluloses]. Moscow, 1972, 440 p. (in Russ.).
3. Abbou A., Kadri N., Debbache N., Dairi S., Remini H., Dahmoune F., Berkani F., Adel K., Belbahi A., Madani K. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, vol. 141, pp. 663–670. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.266.

* Corresponding author.

4. Renaud M., Belgacem M.N., Rinaudo M. *Polymer*, 2005, vol. 46, no. 26, pp. 12348–12358. DOI: 10.1016/j.polymer.2005.10.019.
5. Kadri N., Khettal B., Adjebli A., Cresteil T., Yahiaoui-Zaidi R., Barragan-Montero V., Montero J.-L. *Ind. Crop. Prod.*, 2014, vol. 54, pp. 6–12. DOI: 10.1016/J.INDCROP.2013.12.051.
6. Yong-Guang B., Ding-Long Y., Yu-min L., Min-xia H. *Energy Procedia*, 2012, vol. 17, pp. 1778–1785. DOI: 10.1016/J.EGYPRO.2012.02.311.
7. Junior D.L., Ayoub A., Venditti R.A., Jameel H., Colodette J.L., Hou-min C. *BioResources*, 2013, vol. 8, no. 4, pp. 5319–5332.
8. Novozhilov Ye.V., Poshina D.N. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2011, no. 3, pp. 15–32. (in Russ.).
9. Kuznetsov B.N., Sudakova I.G., Garyntseva N.V., Levdansky V.A., Ivanchenko N.M., Pestunov A.V., Djakovitch L., Pinel C. *Wood Science and Technology*, 2018, vol. 52, pp. 1377–1394. DOI: 10.1007/s00226-018-1029-7.
10. Kuznetsov B.N., Levdansky V.A., Kuznetsova S.A., Garyntseva N.V., Sudakova I.G., Levdansky A.V. *European Journal of Wood and Wood Products*, 2018, vol. 76, pp. 999–1007. DOI: 10.1007/s00107-017-1262-z.
11. Garyntseva N.V., Sudakova I.G., Kondrasenko A.A., Skripnikov A.M., Kuznetsov B.N., Taran O.P., Agabekov V.E. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*, 2015, vol. 8, no. 3, pp. 450–464. DOI: 10.17516/1998-2836-2015-8-3-450-464.
12. Chudina A.I., Malyar Yu.N., Sudakova I.G., Kazachenko A.S., Skripnikov A.M., Borovkova V.S., Kondrasenko A.A., Mazurova E.V., Fetisova O.Yu., Ivanov I.P. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2021. DOI: 10.1007/s13399-021-01833-y.
13. Obolenskaya A.V., Yel'nitskaya Z.P., Leonovich A.A. *Laboratornyye raboty po khimii drevesiny i tsellyulozy*. [Laboratory work on the chemistry of wood and cellulose]. Moscow, 1991, 319 p. (in Russ.).
14. *ASTM D1105-96. Standard Test Method For Preparation Of Extractive-Free Wood*. 2013.
15. Lundqvist J., Teleman A., Junel L., Zacchi G., Dahlman O., Tjerneld F., Stalbrand H. *Carbohydrate Polymers*, 2002, vol. 48, pp. 29–39. DOI: 10.1016/S0144-8617(01)00210-7.
16. Xu C., Leppänen A.-S., Eklund P., Holmlund P., Sjöholm, Sundberg K., Willför S. *Carbohydrate Research*, 2010, vol. 345, pp. 810–816. DOI: 10.1016/j.carres.2010.01.007.
17. Ruiz-Matute A.I., Hernández-Hernández O., Rodríguez-Sánchez S., Sanz M.L., Martínez-Castro I. *J. Chromatogr. B*, 2011, vol. 879, pp. 1226–1240. DOI: 10.1016/j.jchromb.2010.11.013.
18. Hu L., Fang X., Du M., Luo F., Guo Sh. *American Journal of Plant Sciences*, 2020, vol. 11, pp. 2066–2079. DOI: 10.4236/ajps.2020.1112146.
19. Dudkin M.S., Gromov V.S., Vedernikov N.A., Katkevich R.G. *Gemitsellyulozy*. [Hemicelluloses]. Riga, 1991, 488 p. (in Russ.).
20. Kačuráková M., Capek P., Sasinková V., Wellner N., Ebringerová A. *Carbohydr Polym.*, 2000, vol. 43, pp. 195–203. DOI: 10.1016/S0144-8617(00)00151-X.
21. Hong T., Yin J-Y., Nie Sh-P., Xie M-Y. *Food Chemistry: X*, 2021, vol. 12, 100168. DOI: 10.1016/j.fochx.2021.100168.
22. Pawar P.M.-A., Koutaniemi S., Tenkanen M., Mellerowicz E.J. *Front Plant Sci.*, 2013, vol. 4, 118. DOI: 10.3389/fpls.2013.00118.
23. Hannuksela T., Penhoat C.H. *Carbohydrate Research*, 2004, vol. 339, pp. 301–312. DOI: 10.1016/j.carres.2003.10.025.
24. Capek P., Alföldi J., Liskova D. *Carbohydrate Research*, 2002, vol. 337, pp. 1033–1037. DOI: 10.1016/s0008-6215(02)00090-3.
25. Muschin T., Yoshida T. *Carbohydrate Polymers*, 2012, vol. 87, pp. 1893–1898. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.08.059.
26. Hazendock J.M., Reineink E. J.M., Waard P., Dam J.E.G. *Carbohydrate Research*, 1996, vol. 291, pp. 141–154.
27. Vincent P., Ham-Pichavant F., Michaud C., Mignani G., Mastroianni S., Cramail H., Grelier S. *Polymers*, 2021, vol. 13, 2044. DOI: 10.3390/polym13132044.
28. Baath J.A., Martínez-Abad A., Berglund J., Larsbrink J., Vilaplana F., Olsson L. *Biotechnol Biofuels*, 2018, vol. 11, 114. DOI: 10.1186/s13068-018-1115-y.
29. Mudgil D., Barak S., Khatkar B.S. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2012, vol. 50, pp. 1035–1039. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.02.031.
30. Kazachenko A.S., Malyar Y.N., Vasilyeva N.Y., Fetisova O.Y., Chudina A.I., Sudakova I.G., Antonov A.V., Borovkova V.S., Kuznetsova S.A. *Wood Science And Technology*, 2021, vol. 55, pp. 1091–1107. DOI: 10.1007/s00226-021-01299-1.
31. Zhang M., Zhan A., Ye Y., Liu C., Hang F., Li K., Li J. *Carbohydrate Polymers*, 2021, vol. 269, 118248. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.118248.

Received June 29, 2022

Revised September 8, 2022

Accepted September 27, 2022

For citing: Garyntseva N.V., Levdansky V.A., Kondrasenko A.A., Skripnikov A.M., Kuznetsov B.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 4, pp. 47–57. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20220411609.

